



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

TESIS

**PRESENCIA DE *Hepatozoon sp.* EN EL CAIMÁN BLANCO (*Caiman
crocodilus*) DE VIDA LIBRE EN LA ZONA DEL BAJO MADRE
DE DIOS-PERÚ, EN EL AÑO 2014**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
MÉDICO VETERINARIO**

**CARMEN LIVIA CAPUÑAY BECERRA
BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

LIMA – PERÚ

2019

ÍNDICE

	Pág.
Dedicatoria	i
Agradecimiento	ii
Resumen	iii
Abstract	iv
I. INTRODUCCIÓN	8
II. MARCO TEÓRICO	
2.1 <i>Hepatozoon sp.</i>	10
2.1.1 Generalidades	10
2.1.2 Distribución	11
2.1.3 Principales especies en Caimanes	12
2.1.4 Ciclo de Vida	13
2.1.5 Características morfológicas	16
2.1.6 Patogenia	18
2.1.7 Diagnostico	18
2.1.8 Tratamiento	19
2.1.9 Prevención	19
2.2 Caimán blanco (<i>Caiman crocodilus</i>)	
2.2.1 Taxonomía	19
2.2.2 Distribución y habitat	20
2.2.3 Descripción	20

2.2.4 Comportamiento y alimentación	21
2.2.5 Estado de conservación	21
2.3 Antecedentes	22
III.MATERIALES Y MÉTODOS	
3.1 Espacio y Tiempo	27
3.2 Población y muestra	27
3.3 Diseño de investigación	28
3.4 Procedimiento	28
3.5 Diseño estadístico	32
IV. RESULTADOS	33
V. DISCUSIÓN	36
VI. CONCLUSIONES	42
VII. RECOMENDACIONES	43
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	50

DEDICATORIA

Agradezco a mi Padre Víctor así como a mis dos mamis Teresa y Aurora por el constante apoyo a lo largo de mi vida para lograr mis metas, aun cuando existían situaciones adversas, ellos lucharon para sobreponerse a todo y mostrarme que con esfuerzo y dedicación todo sueño se hace realidad.

A mí amado Esposo Richard, que siempre me apoya incondicionalmente en mis decisiones y proyectos de vida.

De la misma forma agradezco a mi mejor amigo Roger, que aunque su luz ya no brilla más en esta tierra, me dejó el mayor de los regalos su amistad y su gran amor desinteresado.

AGRADECIMIENTO

Un agradecimiento especial a todos los profesionales, que formaron parte de mi vida y que a través de sus experiencias, enseñanzas y dedicación me abrieron las puertas para convertirme en lo que desde muy pequeña soñé: “Veterinaria de Fauna Silvestre”, en especial a mi amiga M.V.Z Nancy Carlos por siempre acompañarme y guiarme a ser una mejor profesional.

Gracias a los miembros de la “Reserva Ecológica Taricaya”, por apoyarme incondicionalmente y dedicar tantas horas de trabajo nocturno, con tan solo una meta “conseguir mis muestras a pesar de las dificultades”.

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la presencia de *Hepatozoon sp.* en el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de Dios, ubicado en el departamento de Madre Dios. Se analizaron las muestras tomadas de 30 individuos (4 hembras, 21 machos y 5 indeterminados) de tres categorías etarias (sub adultos, adulto y macho adulto reproductor), los cuales fueron capturados durante los meses de noviembre y diciembre del año 2014. Los caimanes fueron capturados a la orilla del río Madre de Dios y se obtuvo una muestra sanguínea mediante punción de la rama dorsal de la vena cava craneal, realizándose 02 frotices sanguíneos que fueron fijados con metanol. Las láminas fueron depositadas y almacenadas para su posterior análisis. En el Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas se tiñeron las láminas con tinción May-Grunwald Giemsa y fueron observadas al microscopio en busca de hemoparásitos. El presente estudio es el primero realizado en aligatónidos de vida libre en el Perú, hallando que el 90% (27/30) de individuos fueron positivos a *Hepatozoon sp.*, correspondiendo al 100,0% de hembras (4/4), 95,2% (20/21) de machos y 60,0% (3/5) de sexo indeterminado. Además, el 100% de los individuos adultos (4/4) y adulto macho reproductor (1/1), así como el 88% (22/25) de sub-adultos fueron positivos. No lográndose determinar si el sexo sería un factor de riesgo para la presencia de hemoparásitos, pero sí encontrando una diferencia según la categoría etaria donde todos los adultos estaban parasitados. Adicionalmente se estableció un promedio biométrico de los gamatocitos tanto intra como extraeritrocítico, confirmando el género *Hepatozoon*.

PALABRAS CLAVE: *Caiman crocodilus*, *Hepatozoon spp.*, gametocito, hospedero invertebrado hematófago, impacto antropogénico.

ABSTRACT

The objective of the investigation was to determine the presence of *Hepatozoon* sp. in the White Caiman (*Caiman crocodilus*) of free life in the area of Bajo Madre de Dios, located in the department of Madre Dios. The samples taken from 30 individuals (4 females, 21 males y 5 indeterminate) of three age categories (sub adults, adult and adult male reproductive), which were captured during the months of November and December of the year 2014, will be analyzed. The alligators were They were captured on the banks of the Madre de Dios River and a blood sample was obtained by puncturing the dorsal branch of the cranial vena cava, performing 2 blood smears that were fixed with methanol. The sheets were deposited and stored for further analysis. In the Central Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of Alas Peruanas University, write the sheets with the stain. May-Grunwald Giemsa and observed the microscope in search of hemoparasites. The present study is the first performed in free-living crocodiles in Peru, finding that 90% (27/30) of the individuals were positive for *Hepatozoon* sp., Which corresponds to 100.0% of females (4 / 4), 95, 2% (20/21) of males and 60.0% (3/5) of undetermined sex. In addition, 100% of adults (4/4) and adult reproducers (1/1), as well as 88% (22/25) of sub-adults were positive. Not being able to determine if sex would be a risk factor for the presence of hemoparasites, but if finding a difference according to the age category where all adults were parasitized. In addition, a biometrical average of the gametocytes was established, both intraerythrocytic and extraerythrocytic, confirming the genus *Hepatozoon*.

KEY WORDS: *Caiman crocodilus*, *Hepatozoon spp.*, gametocyte, invertebrate hematophagous host, anthropogenic impact.

I.INTRODUCCIÓN

Los reptiles son hospederos de una extensa variedad de hemoparásitos, siendo una de las principales las denominadas “Hemogregarinas” que incluyen al género *Hepatozoon*. Estos parásitos suelen hallarse de manera incidental, es por ello que en algunos hospederos vertebrados no suelen causar sintomatología alguna al tornarse relativamente inofensivos para su huésped. Sin embargo, en ciertas circunstancias tienen el potencial de causar problemas reproductivos, anemia e inanición. Los factores predisponentes incluyen trastornos nutricionales, temperaturas inadecuadas y hacinamiento. Además es importante considerar que en silvestría, ciertos factores antrópicos como la contaminación ambiental y la disminución de sus territorios podrían causar cambios en la relación huésped – parásito, ocasionando los problemas mencionados anteriormente.

Por otro lado, el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) es el aligatórido más común y de mayor distribución en América Latina. En la Amazonia Peruana es considerado “carne de monte” y su consumo es frecuente tanto por los pobladores nativos como por el turista, siendo para estos últimos uno de los platos exóticos más exquisitos. Además, su cuero y ciertas partes de su esqueleto son vendidos a precios exorbitantes, haciendo de esta especie uno de los cocodrilianos más intensamente explotado. Existe poca información sobre las poblaciones presente en el Perú, por lo que no se puede determinar con veracidad el grado de amenaza que enfrenta en la actualidad.

Debido a su importancia ecológica realizar estudios sobre su biología o temas relacionados con su salud son necesarios para su conservación. Es por eso que en el año 2014 se realizó el estudio titulado “Muestreo Biológico *in situ* de Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*), Caimán Negro (*Melanosuchus niger*) y Caimán Enano (*Paleosuchus trigonatus*) en la parte

baja del Rio Madre de Dios”, en el Sureste de la Amazonia Peruana. Este trabajo tuvo como objetivo conocer el estado de salud de los caimanes, en especial en un ambiente con cierto grado de impacto antrópico.

Respecto a los estudios sobre hemoparásitos en el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) en Perú, se realizaron dos en individuos mantenidos en cautiverio, uno en la ciudad de Lima donde se halló un 10% de *Hepatozoon caimani* y otra en la ciudad de Iquitos encontrando un 93,3% de *Hepatozoon sp.* Por lo tanto cabe mencionar que no se han encontrado estudios en el ámbito sanitario y/o médico en caimanes de vida libre en la Amazonia Peruana, por lo cual sería importante dirigir esfuerzos en busca de conocer los hemoparásitos en poblaciones silvestres.

Debido a la importancia del Caimán Blanco en la amazonia y la relevancia de ciertos patógenos, el objetivo del estudio fue determinar la presencia de *Hepatozoon sp.* en el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de Dios en el año 2014, examinando frotices sanguíneos teñidos con tinción May-Grunwald Giemsa. Esta información permitirá conocer la presencia de uno de los hemoparásitos más importantes que afecta a poblaciones silvestres de caimanes, y de esta manera iniciar una base de datos sobre la salud de las población y la relación con su ecosistema, favoreciendo la conservación de esta especie, adicionalmente los hallazgos del presente estudio serán de importancia para el manejo de especies en cautiverio.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 *Hepatozoon sp.*

2.1.1 Generalidades

Los vertebrados ectodérmicos, como los reptiles, son hospederos de una variedad de parásitos sanguíneos, que incluyen a protozoarios, virus y estructuras no identificadas. Estos parásitos constantemente experimentan cambios de sus hospederos, como fluctuaciones de temperatura, hábitat, estrategias reproductivas, comportamiento migratorio y genética de la población (1). Además, la biología del eritrocito de reptiles podría influir en la naturaleza del comportamiento de los parásitos intraeritrocitarios, por lo que la mayoría de los parásitos son relativamente inofensivos y pueden ser un hallazgo incidental (1).

Sin embargo, diversos autores mencionan que algunos parásitos pueden causar serios daños en el hospedero reptil e incluso comprometer su vida (1, 2, 6). Las especies patógenas a menudo causan enfermedades en reptiles jóvenes y geriátricos. Los factores que contribuyen a las patologías asociadas con infecciones parasitarias en reptiles, incluyen trastornos nutricionales y estrés ambiental; así como el mantenimiento a temperaturas fuera del rango óptimo del reptil, el hacinamiento y el saneamiento deficiente, que incluye un control pobre de ectoparásitos u otros invertebrados. Además, hay que considerar que en cautiverio se suele juntar especies de diversos orígenes y esto podría crear infecciones parasitarias severas en hospederos no naturales (1).

Los hemoparásitos más comunes en reptiles incluyen a las Hemogregarinas, Tripanosomas y *Plasmodium*, y los menos comunes incluyen *Leishmania*, *Sauroplasma*, *Haemoproteus* y

Shellackia, y todos los Piroplasmidos. La *Microfilaria* es comúnmente encontrada en sangre periférica (1).

Las Hemogregarinas (Apicomplexa: Adeleiorina) son los hemoparásitos de reptiles más comunes, especialmente en serpientes (1, 2, 7). Se encuentran ampliamente distribuidas y son específicas según el orden taxonómico de cada reptil. Actualmente se reconocen tres familias de Hemogregarinas: Hepatozoidae, Haemogregarinidae y Karyolysidae, cada una de ellas diferenciada por patrones de desarrollo muy diferentes en sus hospederos invertebrados en los que se produce la esporogonia. Se han descrito unas 400 especies de Hemogregarinas, antes de finales de la década de 1960 solo se conocían por las etapas eritrocíticas, células circulantes y formas divisionales en tejidos (7).

El género *Hepatozoon* es el único perteneciente a la familia Hepatozoidae, reportado por primera vez en 1908 en la ciudad de Washington (EEUU). Posteriormente, se realizaron otros descubrimientos en los que incluían diversos reptiles, pero no es hasta 1932 que se demostró la presencia de la esporogonia de *Hepatozoon pettiti* en moscas tsetse alimentadas con sangre de Cocodrilo del Nilo (*Crocodylus niloticus*) infectado, siendo este el primer cocodriliano en el que se halló este hemoparásito. Actualmente se conocen unas 38 especies de *Hepatozoon*, identificadas tanto en el hospedero vertebrado como en el hospedero invertebrado. Otra especie reportada es *H. caimani* que parasita a los cocodrilianos, así también existen registros de otras Hemogregarinas pero de las que se desconoce hasta la fecha la esporogonia por lo que aún no se describe la especie (7,8).

2.1.2 Distribución

El género *Hepatozoon* está ampliamente distribuido a nivel mundial, encontrándolo en América del Norte, Trópico, Europa, Asia, Australia y África. Esta distribución se debe

principalmente a los diversos hospederos invertebrados que parasita y a su adaptabilidad a las diversas especies de hospederos vertebrados que intervienen en su ciclo de vida (7). En Perú solo se ha reportado para cocodrilianos en cautiverio, por lo que la información en cuanto a la distribución del parásito así como otros posibles hospederos es muy reducida.

2.1.3 Principales especies en Caimanes

En la actualidad se han descrito diversas especies parasitando caimanes, entre ellas podemos mencionar a *H. crocodilorum*, *H. hankini*, *H. pettiti*, *H. serrei*, *H. sheppardi* y *H. caimani*; siendo esta última la especie de mayor distribución y prevalencia en diversos estudios de investigación (8, 9).

2.1.3.1. *Hepatozoon caimani*

Esta especie de *Hepatozoon* ha sido identificado para el Yacaré Overo (*Caiman latirostris*), Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) y Caimán Yacaré (*Caiman yacare*) (4, 7, 10). Es un parásito con cuerpo alargado, el gametocito alcanza medidas de forma extendida entre 16,2 a 25 – 25 x 4 μm , y de forma doblada de 10 x 3,8 a 13,8 x 3,8 μm , con un núcleo en la parte media que puede extenderse hasta el primer cuarto del gametocito, estos pueden permanecer dentro o fuera del glóbulo rojo. Los eritrocitos rara vez se deforman por la presencia de un solo gameto, pero las células infectadas por varios gametocitos se hipertrofian y distorsionan. Los núcleos de los eritrocitos infectados se desplazan lateralmente (7).

Se ha demostrado que *Culex dolosus* y *Culex fatigans* intervienen en la fase de esporogonía completa de *H. caimani*. En *C. fatigans*, los ooquistes maduros están presentes en grandes cantidades a los 21 días post infección y se ubican en el hemocele perivisceral (intestino medio) del mosquito. Los oocistos son casi esféricos llegando a 260 μm de diámetro,

conteniendo un estimado de 80 a 100 esporoquistes esféricos 20 a 30 μm de diámetro que producen de 12 a 24 esporozoitos. Los merontes de un solo tipo se desarrollan en la lámina propia del intestino delgado, midiendo entre $13 \times 9,6 - 20,7 \times 18 \mu\text{m}$, los cuales producen de 6 a 10 merozoitos en forma de media luna. Los quistes monozoicos y dizoicos aparecen principalmente en el hígado, pero también aparecen en otros órganos de los caimanes infectados de forma natural (7,9).

Los caimanes pueden infectarse directamente por la ingestión de artrópodos hematófagos infectados o alimentándose de otros vertebrados (probablemente caimanes más pequeños o anfibios) que han ingerido artrópodos infectados y se convierten en hospedadores de quistes monozoicos, dizoicos o hexazoicos en sus vísceras. Lainson (2003) refiere que el último modo de transmisión mencionado anteriormente podría ser el modo predominante para *H. caimani*. Ambos modos de infección producen infecciones eritrocíticas patentes por gametocitos, y esto parece ser único entre las especies de *Hepatozoon* estudiadas hasta ahora. Otros rasgos distintivos encontrados en *H. caimani* son la restricción de la merogonía a la lámina propia del intestino delgado y la formación aparente de un solo tipo de merontes. La presencia de macro y micromerontes es típica en otras especies de *Hepatozoon* de reptiles donde se conoce la merogonía (7).

2.1.4 Ciclo de Vida

La mayoría de los ciclos de vida de las especies de *Hepatozoon* en reptiles se han estudiado con mosquitos de laboratorio, principalmente con varias especies de *Culex* y *Aedes* y, raramente, especies de *Anopheles*. Aparentemente hay solo ocho especies de vectores que se han encontrado naturalmente infectadas por ooquistes de *Hepatozoon* o esporoquistes de origen reptil: la mosca tsetse (*Glossina palpalis*), las garrapatas *Amblyomma dissimile* e *Hyalomma cf. Aegyptium*, los ácaros *Ophionyssus sp.* y *Hirstiella sp.*, chinches como *Triatoma arthurneivae* y *Triatoma rubrovaria*, flebótomos como la mosca del drenaje

Lutzomyia vexator occidentis (7). Tras algunos experimentos en serpientes con sanguijuelas infectadas con *Hepatozoon*, ninguna resulto infectada, lo que crea dudas sobre la capacidad de las sanguijuelas para vectorizar especies de *Hepatozoon* (9).

El ciclo de vida de las especies de *Hepatozoon* puede tener uno o dos huéspedes vertebrados, teniendo en cuenta que algunos ciclos son conocidos para algunas especies, en particular para aquellas especies que requieren dos huéspedes vertebrados para completar su ciclo de vida, hasta ahora tres especies fueron demostradas (*H. domerguei*, *H. sipedon*, *H. sirtalis*) donde la transmisión al segundo hospedador vertebrado depende de su depredación del primer hospedador vertebrado (7).

Los estudios de laboratorio han demostrado claramente que muchas especies de *Hepatozoon*, particularmente en las serpientes, pueden infectar al huésped final vertebrado directamente del invertebrado en el que se ha producido la esporogonia. Realmente cómo se produce esta infección en la naturaleza sigue siendo una cuestión abierta, dada la gran diversidad de especies y sus hábitos alimenticios, así como la ecología variable de los hospedadores vertebrados finales (7).

La sola presencia de quistes monozoicos o dizoicos de *Hepatozoon* en los tejidos de un vertebrado no es evidencia definitiva de que la función de estos quistes sea transmitir al parásito a un segundo huésped vertebrado. Estos quistes se ven comúnmente en el hígado y los pulmones de las serpientes que no forma parte de la cadena alimenticia de otras especies de serpientes. Su función, de hecho, puede ser proporcionar una infección continua con la formación de gametocitos maduros (7).

El ciclo típico de las especies de *Hepatozoon* estudiadas con el uso de mosquitos experimentales comienza rápidamente después de la ingestión del gametocito en sangre periférica. Los macro y microgamontes abandonan sus células hospedadoras y penetran en la pared intestinal, entrando en el hemocele del hospedero invertebrado, donde se produce el emparejamiento (syzygy), a este proceso se le denomina ciclo esporogónico (7).

La gametogénesis, probablemente ocurre dentro de las células grasas del cuerpo del hemocele, donde se produce de dos a cuatro microgametos biflagelados, uno de los cuales fertiliza el macrogameto, formando un cigoto, este se convierte en un oocisto que contiene múltiples centros germinales (polisporocísticos) que forman esporoquistes, que a su vez producen esporozoitos que varían en número de 4 a 50 o más, variando según la especie de *Hepatozoon*. Los ooquistes se pueden formar en el hemocele del abdomen y tórax o dentro de la cabeza, y mientras algunas especies no muestran un sitio preferido, otras pueden estar restringidas a una porción particular del cuerpo del hospedero vertebrado (7).

Cuando se logra la infección del huésped vertebrado, por ingestión forzada en situaciones experimentales, los esporozoitos abandonan sus esporoquistes, aparentemente penetran en la pared intestinal y entran al sistema circulatorio del vertebrado. Los esporozoitos alcanzan el hígado o los pulmones en la mayoría de las especies de *Hepatozoon*, donde forman merontes en células parenquimatosas hepáticas, células de Kupffer o células endoteliales de capilares y paredes sinusales. La primera generación de merontes denominados macromerontes, forman macromerozoitos que producen micromerozoitos. En última instancia, los merozoitos se liberan de sus merontes y entran en los eritrocitos de la sangre circulante para convertirse en gametocitos maduros (7) (Anexo 1).

2.1.5 Características morfológicas

En el hospedero vertebrado los parásitos maduros pueden encontrarse de manera tanto intra o extraeritrocitaria, dentro de los eritrocitos los gametocitos de *Hepatozoon* tienen una forma característica de "Banana". A diferencia de los gametocitos de las Haemogregarinas, los de la mayoría de las especies de *Hepatozoon* no se recurvan sobre sí mismos. Ambos extremos son generalmente romos, a veces uno o ambos se afilan ligeramente, y un extremo es ligeramente más ancho que el otro. Algunos autores consideran el extremo más ancho como "anterior" y el extremo más estrecho como "posterior". En algunas especies, el extremo posterior tiene un pronunciado estrechamiento, y en estos puede haber una "cola" recurvada. El citoplasma del gameto puede ser uniforme o mostrar una profusión de vacuolas redondeadas. En algunas especies, los gránulos azurófilos se encuentran dispersos dentro del citoplasma (7).

Los gametocitos libres son alargados y estrechos, con un núcleo ligeramente anterior a la mitad del cuerpo y, por lo general, tienen un extremo posterior algo afilado. Dependiendo de la especie, los gametocitos aparentemente maduros pueden tener una longitud de 10 μm y pueden exceder de 20 μm , pero la mayoría son de 14 μm a 18 μm . Los núcleos de los gametocitos suelen ser cuerpos compactos ubicados en la parte media del cuerpo, en el segundo cuarto o en un extremo. A menudo tienen forma cuadrada, cubriendo el ancho del parásito, o algo triangular, descrito como en forma de "silla de montar". Los núcleos en algunas especies pueden ser alargados y estrechos (7).

Los gametocitos jóvenes, a menudo denominados como trofozoítos, son alargados pero más cortos y estrechos que las formas maduras, con núcleos prominentes que a menudo cubren la mayor parte del cuerpo del parásito. Los núcleos en estas etapas suelen mostrar cierta irregularidad en la forma, con espacios visibles entre las masas o bandas de cromatina, y el citoplasma a menudo se vacuola. Los núcleos formados de manera irregular

también son comunes en gametocitos de tamaño maduro, y ocasionalmente los núcleos se fragmentan en pequeños pedazos o en dos mitades (7).

El sexo del gametocito rara vez es diferenciable, pero se ha descrito que en algunas especies muestran una intensidad de tinción diferente, algunas más oscuras y otras más pálidas, lo que probablemente sea indicativo de dimorfismo sexual. Los gametocitos encapsulados son a menudo vistos en los eritrocitos circulantes. La función de la encapsulación no está probada, pero podría ser para mejorar la supervivencia del mismo durante la digestión del vector o tal vez como una defensa contra la respuesta inmune por parte del huésped vertebrado (7).

Dentro de los vectores u hospederos invertebrados se encuentran los ooquistes que suelen ser esféricos u ovoides y aparecen como una pared delgada que rodea a los esporocistos. Pueden alcanzar un diámetro superior a 300 μm , dependiendo del número de esporocistos característicos de la especie *Hepatozoon*. Los ooquistes maduros son frágiles y a menudo se rompen durante la disección del huésped. Los esporocistos también tienen forma esférica u ovoide o algo alargada, nuevamente rodeados por una pared quística. Al igual que con los ooquistes, su diámetro depende del número de esporozoítos que se forman en el interior, tanto el tamaño del esporocisto como el número de esporozoítos a menudo son característicos de una especie de *Hepatozoon* (7).

Los números más pequeños de esporozoítos son los de *H. sipedon* y *H. sirtalis*, que producen 8 y 4 a 8, respectivamente, dentro de un ooquiste grande puede haber más de 300 esporocistos. Los esporozoítos suelen ser alargados y estrechos, con un extremo afilado y un núcleo prominente cerca de la mitad del cuerpo, por lo general no dispuestos de manera particular dentro del esporoquiste, aunque algunos parecen formarse en filas (7).

2.1.6 Patogenia

Dado que la patogenicidad en los hospederos vertebrados aun en infecciones masivas suele ser leve (7). Varios autores describen animales bajo condiciones de estrés e inmunosupresión donde se identificó anemia hemolítica y cuadros neurológicos debido a pancreatitis, esplenitis, hepatitis necrosante e inanición (1, 2, 4), así también se describe obstrucciones capilares con consecuente trombosis y necrosis tisular (6).

A veces las células hospedadoras se muestran distorsionadas y agrandadas, con núcleos desplazados, alargados y estrechos, pero rara vez se pueden describirse como lisados, sin embargo en algunas especies de *Hepatozoon* (*H. rarefaciens* y *H. fusifex*) la hipertrofia de los eritrocitos puede ser dramática, distorsionando la célula huésped y en otros casos pudiendo ocurrir la deshemoglobinización del eritrocito como en *Hepatozoon sipedon* y *Hepatozoon sirtalis* (7).

2.1.7 Diagnóstico

Se recomienda como medida obligatoria de todo examen médico para diagnóstico de alguna patología o como prevención en la toma de muestras de rutina, realizar un examen parasitológico (Hemoparásitos). Para ello se colecta una mínima cantidad de sangre con la que se realizará algunos frotices sanguíneos, posteriormente se debe fijar y teñir con Wright, Giemsa o May –Grunwald Giemsa, e iniciar la búsqueda de gametocitos tanto intraeritrocitario como extraeritrocitario, adicionalmente se debe tener en consideración que este estadio puede manifestarse en promedio entre los 59 y 79 días post-infección (8,12).

Para la identificación del parásito se debe tener en consideración tanto las características morfológicas como morfométricas y ubicación de los gametocitos tanto libres como intraeritrocitarios. Actualmente se cuenta con técnicas moleculares con las que se puede

asegurar la identificación del género y especie de los diversos hemoparásitos, tanto en el hospedero vertebrado como en la fase esporogónica en el hospedero invertebrado (7,8)

2.1.8 Tratamiento

No se han establecido tratamientos específicos debido a que los individuos infectados pocas veces manifiestan sintomatología, además cabe mencionar que muchos antiparasitarios están contraindicados en reptiles y otros deben ser usados con cuidado debido a su acción hepatotóxica (11,13).

2.1.9 Prevención

Principalmente las medidas de prevención se pueden aplicar a especímenes en cautiverio, en los que se pueden controlar los hospederos invertebrados, y de esta manera romper el ciclo de vida de los parásitos. Lamentablemente la idea de un sistema de prevención en vida libre se torna más complejo ya que para ello se tendría que trabajar con ecosistemas y más aún cuando el impacto antropogénico puede estar relacionado indirectamente al aumento de dichas parasitemias en diversos vertebrados (11,14).

2.2 Caimán blanco (*Caiman crocodilus*)

2.2.1 Taxonomía

- Reino: Animalia.
- Phylum: Chordata
- Clase: Reptilia
- Orden: Crocodylia
- Familia: Alligatoridae
- Nombre científico: *Caiman crocodilus* (Linnaeus, 1758) (15).

2.2.2 Distribución y hábitat

Esta especie es la de mayor distribución de toda la familia Alligatoridae, esto gracias a la facilidad de adaptación que tiene a los diferentes hábitats, actualmente ocupa un territorio que originalmente eran dominados por otras especies de cocodrilianos (4). Se distribuye en los ríos de diversos países como Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Guatemala, Guyana, Honduras, México, Nicaragua, Panamá, Perú, Surinam, Trinidad y Tobago y Venezuela. En Perú se encuentra en toda la Amazonía por debajo de los 700 msnm (3).

2.2.3 Descripción

Es un cocodriliano de porte medio y relativamente pequeño, los machos llegan a medir 2.5m y las hembras 1,5m (16). El crecimiento de los caimanes tiene múltiples fases, principalmente debido a factores externos del medio ambiente y a cambios en sus hábitos alimenticios de acuerdo a su edad. Además, las hembras tienden a crecer más lentamente que los machos, lo que resulta en una pérdida de la relación directa entre el crecimiento corporal y la edad estimada de un animal (17).

Presentan una capa osificada enfrente de los ojos (capa infra-orbital). Los juveniles son amarillos con manchas oscuras a los lados del cuerpo y la cola. Cuando son adultos pierden la coloración amarilla y las marcas, tornándose de un color verde oliva oscuro. El número total de dientes varía de 72 a 78. Las piernas son cortas con dedos y garras corneas separadas por membranas natatorias. Las narinas son pequeñas y se encuentran en el extremo de la maxila (16). Habita en todo tipo de curso y depósitos de agua dulce. Demuestra preferencia por depósitos de agua sin corriente y es posible verlo en agua salobre. Aparenta tener gran capacidad de adaptación a nuevos hábitats disponibles (18).

2.2.4 Comportamiento y alimentación

Esta especie es nocturna, aunque se la observa asoleándose durante el día en bancos y playas de los ríos. Presenta un comportamiento más gregario que otros caimanes (19). En cuanto a su alimentación los caimanes jóvenes comen una gran variedad de invertebrados acuáticos (insectos, crustáceos y moluscos). Cuando crecen, son varios los vertebrados que están incluidos en su dieta como peces, anfibios, reptiles, aves acuáticas y pequeños mamíferos. Los animales de mayor tamaño pueden cazar mamíferos grandes como pecaríes. En épocas de poco alimento se ha registrado canibalismo, siendo los más susceptibles a ser cazadas las crías menores de un año (15).

2.2.5 Estado de conservación

En el Perú, a inicios de la década de los 70 y con el crecimiento conservacionista se logró convencer a las autoridades nacionales de decretar la veda total e indefinida para la caza de especies silvestre en la Amazonía Peruana (Decreto Supremo N°934-73 AG publicado 03 octubre 1975). Sin embargo, por un período la explotación ilegal aún mantenía niveles altos, a partir de los 80 el estado en conjunto con diversas ONG lograron reducir el impacto en las especies de cocodrilianos a través de diversos trabajos con las poblaciones y comunidades nativas (3).

Posteriormente, el Decreto Supremo 004-2014 MINAGRI aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre, pero en la cual no se incluye al Caimán Blanco (20). En la actualidad aún no se ha establecido un Plan de Acción para la conservación de los Aligatóridos en el Perú (3).

La Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna silvestre (CITES) incluye a esta especie en el Apéndice II (21). Para la Unión Internacional

para la Conservación de la Naturaleza y los Recursos Naturales (UICN) se encuentra en preocupación menor (Least Concern-LC) (22).

2.3 Antecedentes

En los últimos años, los estudios sobre hemoparásitos en cocodrilianos a nivel internacional se han realizado principalmente en Brasil, en el Caimán Yacaré (*C. yacare*) y Caimán Negro (*Melanosuchus niger*) (6, 10, 14, 23, 24). En el Perú, existe un estudio en el Cocodrilo de Tumbes (*C. acutus*) en cautiverio (25) y dos en el Caimán Blanco (*C. crocodilus*) en la ciudad de Lima e Iquitos con individuos mantenidos en cautiverio (4, 5).

Souza y Silva, trabajaron en el Pantanal Sur (Brasil) en el año 2004, logrando capturar siete (07) individuos de Caimán Yacaré (*Caiman crocodilus yacare*). Para la toma de muestra sanguínea se realizó una punción cardiaca, obteniéndose los frotices necesarios que posteriormente tiñeron con Giemsa. El objetivo del estudio fue analizar los aspectos morfológicos y morfométricos del *Hepatozoon caimani*. Identificándose *Hepatozoon caimani* en la totalidad de los caimanes, es decir en el 100% de los animales capturados (7/7) (6).

Santos y colaboradores, estudiaron 26 individuos de Caimán Negro (*Melanosuchos niger*) y 39 individuos de Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) en el Área de Protección Ambiental del río Araguaia (Brasil), durante los años 2008 y 2009. Se realizaron frotis sanguíneos y tiñeron con Wright, en busca de hemoparásitos. Se determinó que el 70,76% (46/65) presentaban hemoparásitos intraeritrocitarios identificados como Haemogregarinidae (14).

Viana y colaboradores, formaron parte de un estudio realizado en el Sur del Pantanal, estado de Mato Grosso (Brasil), con poblaciones libres de Caimán Yacaré (*Caiman yacare*)

durante el periodo de julio del 2006 hasta febrero del 2008, logrando capturar 229 animales. El objetivo del estudio fue hallar la prevalencia y parasitemia del *Hepatozoon caimani*, obteniéndose muestras de sangre bimestrales donde se determinó que el 76% fue positivo al hemoparásitos en estudio. Además se observó una variación significativa de la prevalencia según el mes de muestreo y tamaño del animal, siendo positivos el 100% de los adultos, el 97% de los adultos-jóvenes, el 63% de juveniles y negativo para los individuos muy jóvenes. La parasitemia media en sangre fue de $13,5 \pm 13,0$ ($n = 174$; 1–96 parásitos) y no varió significativamente con respecto al género, mes de muestreo, tamaño o peso del caimán (10).

Andrew y colaboradores, realizaron un estudio en el estado de Carolina (EE. UU) en el año 2010, con el objetivo de determinar la posible diferencia en el parasitismo por Hemogregarinas entre machos y hembras en el Alligator del Mississippi (*Alligator mississippiensis*). Se analizaron 76 individuos (60 machos y 16 hembras) realizándose frotices sanguíneos que fueron teñidos con Giemsa. La prevalencia de infección a Hemogregarinas fue de 49% (37/76) del total de la población, 69% (11/16) en hembras y 42% (24/60) en machos, según los autores diferencia entre géneros en la infección no está clara (26).

Leslie y colaboradores, participaron de un trabajo en el año 2011 en el Delta del Okavango (Botswana), con el objetivo de realizar un estudio preliminar de las enfermedades que podrían estar presentes en la población de Cocodrilos del Nilo (*Crocodylus niloticus*). Las muestras de sangre se obtuvieron de cocodrilos de tamaño variable siendo desde 34,0 cm a 463,0 cm de longitud total. Las muestras se examinaron para detectar parásitos sanguíneos y se sometieron a un análisis hematológico. Antes de su liberación, los cocodrilos fueron examinados para detectar diversas anomalías clínicas. De los 144 cocodrilos examinados, ninguno estaba visiblemente enfermo o mostraba signos de enfermedad. *Hepatozoon pettiti* estuvo presente en el 55,3% de los frotis de sangre

examinados adicionalmente solo el 7,6% de los cocodrilos examinados fueron infestados con sanguijuelas (27).

Soares y colaboradores, realizaron un estudio en el Pantanal (Brasil) en el año 2017. El objetivo de la investigación fue reportar al *Hepatozoon caimani* tanto en muestras sanguíneas como en tejidos, así también la caracterización molecular parcial del parásito siguiendo parte de la región de su ARNr 18S. Se tomaron muestras de 39 caimanes adultos (*Caiman yacare*) donde el 79,5% (31/39) fue parasitados por *H. caimani*. Los gametocitos libres tuvieron una intensidad media de 19,6% y las formas intraeritrocíticas de un 7,42%, ambos en frotis sanguíneos. En los frotis de hígado y pulmón de estos individuos infectados naturalmente se encontraron quistes monozoicos y dizoicos, generalmente cerca a los vasos sanguíneos. En la histopatología se identificó merontes (esquizonte) en la pared de vasos hepáticos y conductos renales (23).

Frias y colaboradores, llevaron a cabo un estudio en dos localidades del Parque Nacional Yasuní (Ecuador) en el año 2017, donde se analizó un grupo de Caimanes Negros (*Melanosuchus niger*) con el objetivo de identificar los Hemoparásitos en esta especie. Se muestreo 6 individuos en la localidad de Lagartococha y 14 especímenes en Tambococha. Las muestras fueron obtenidas por punción a nivel del seno occipital y de la vena coccígea para luego ser procesadas. Los hallazgos mostraron que de las 20 muestras obtenidas en campo el 30% (6/20) de individuos fueron positivos a *Microfilaria* spp., y el 25% (5/20) a *Hepatozoon* spp. El 50%(3/6) fueron individuos en Lagartococha y 14%(2/14) en Tambococha) (19).

Bouer y colaboradores, ejecutaron un trabajo al Norte del Pantanal, estado de Mato Grosso (Brasil) en el año 2017. Para este estudio se trabajó con 33 Yacarés de Pantanal (*Caiman crocodilus yacare*) de los cuales 24 fueron de vida libre y 09 provenientes de cautiverio. El

objetivo del estudio fue detectar y caracterizar a los *Hepatozoon spp.* utilizando para ello frotices sanguíneos y técnicas moleculares. Los resultados de los frotices fueron de 70,8% (17/24) y 88,8% (8/9) y a nivel molecular se identificó 18S rRNA DNA de *Hepatozoon spp.* en el 79,2% (19/24) y 88,8% (8/9) para individuos libres y cautiverio respectivamente. Adicionalmente los autores mencionan que en el análisis filogenético basado en la secuencia de ADN 18S rRNA se agrupó las secuencias de *Hepatozoon spp.* detectados en este estudio con las de *H. caimani* detectadas en otros estudios al Sur del Pantanal (24).

En el Perú, uno de los tres estudios realizados en cocodrilianos fue el descrito por Rojas y colaboradores. Esta investigación se realizó en las instalaciones del Parque Zoológico Huachipa en la ciudad de Lima (Perú) en el año 2006, con el objetivo de evaluar la presencia de *Hepatozoon caimani*. Para ello analizaron 10 individuos de Caimán Blanco (*C. crocodilus*) de ambos sexos (5 machos y 5 hembras) y de varias edades (4 juveniles y 6 adultos). Se tomaron muestras sanguíneas para realizar frotices sanguíneos que fueron teñidos con M-Giemsas y observados al microscopio óptico. Se halló un 10% (1/10) positivo a *Hepatozoon caimani*, llegándose a contarse 12 parásitos intraeritrocitarios en el frotis (4).

Ortiz realizó un estudio en el Parque Zoológico Quistococha ubicado en la ciudad de Iquitos (Perú) en el año 2006, con el objetivo de identificar la presencia del género *Hepatozoon* en un grupo de caimanes mantenidos en cautiverio. Se muestreo 15 ejemplares (5 machos, 8 hembras y 2 crías) de Caimán Blanco (*C. crocodilus*) aparentemente sanos. Los frotices sanguíneos obtenidos fueron coloreados con May-Gruenwald-Giemsa para su análisis respectivo con un microscopio óptico de campo claro. Hallando que el 93,3% (14/15) de los animales resultó positivo a *Hepatozoon sp.* (5).

Enríquez y colaboradores desarrollaron un estudio en el “Zoocriadero La Tuna Carranza” en el departamento de Tumbes (Perú) en el año 2009, para determinar la presencia de

hemoparásitos en los Cocodrilos de Tumbes (*Crocodylus acutus*). Para el trabajo se analizaron 30 individuos a los que se les tomó una muestra de sangre para los frotices, posteriormente las láminas fueron teñidas con colorante Giemsa y T-15® para su observación al microscopio. Los hemoparásitos encontrados fueron de los géneros *Haemogregarina* y *Hepatozoon*, obteniendo valores de 50% (15/30) de individuos con infecciones únicas a *Haemogregarina sp.*, 16,6% (5/30) de infecciones únicas a *Hepatozoon sp.*, y el 23,3% (7/30) de animales con infección mixta (25).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Espacio y tiempo

Los animales fueron capturados en ambas márgenes del río conocido como Bajo Madre de Dios, aproximadamente a 23 km al noroeste de la ciudad de Puerto Maldonado, Provincia Tambopata, en el departamento de Madre de Dios. En un área comprendida entre las siguientes coordenadas: UTM 19L 0500836 – 8616217 y 19L 0503519 – 8615473. El estudio forma parte de la investigación titulada “Muestreo Biológico *in situ* de Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*), Caimán Negro (*Melanosuchus niger*) y Caimán Enano (*Paleosuchus trigonatus*) en la parte baja del Rio Madre de Dios, en el Sureste de la Amazonia Peruana”. Los individuos se capturaron durante los meses de noviembre a diciembre del 2014 (Anexo 2).

Las muestras fueron analizadas en el laboratorio central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Alas Peruanas (UAP), ubicada en Calle Los Tulipanes cuadra 2 S/N (Altura Paradero Rinconada Alta), distrito de Pachacamac, departamento de Lima.

3.2. Población y muestra

La población de Caimán Blanco (*C. crocodilus*) es desconocida para la zona del Bajo Madre de Dios. El proyecto de investigación mencionado previamente, tuvo un muestreo no probabilístico por conveniencia, con un esfuerzo de 8 hrs/día por 6 días, obteniendo un total de 48 horas de trabajo. Periodo en el cual se capturaron 30 individuos (5 indeterminados, 4 hembras y 21 machos), los cuales fueron divididos en 4 categorías en base a la longitud

total (LT): categoría I (0,23-0,40 m: menores de un año), categoría II (0,41-1,30 m: sub-adultos), categoría III (1,31-1,70 m: reproductores adultos machos y hembras), y categoría IV (> 1,70 m: machos adultos) (28).

3.3. Diseño de la investigación

Esta investigación fue no experimental descriptiva. Este trabajo se inició con la aprobación del proyecto y autorizaciones necesarias, los frotices sanguíneos fueron teñidos y observados al microscopio en el laboratorio, en el cual se identificaron los elementos parasitarios obteniéndose las conclusiones pertinentes.

3.4. Procedimientos

a) Autorizaciones

- El estudio se dio inicio luego de la aprobación del Proyecto de Tesis por parte de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas, denominado “Hemoparásitos en el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de Dios en el año 2014” con N° de Resolución 217-2018-FCA-UAP (Anexo 3).
- Cabe indicar, que el proyecto se llevó a cabo en el marco de la investigación titulada “Muestreo biológico in situ de Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*), Caimán Negro (*Melanosuchus niger*) y Caimán enano (*Paleosuchus trigonatus*) en el Rio Bajo Madre de Dios”, dirigido por el investigador, contando con el permiso de investigación respectivo (Resolución de Dirección General N° 042-2014-SERFOR-DGGSPFFS) (Anexo 4).

b) Ubicación y captura de individuos

- Con el bote se navegó por ambos márgenes del río, ubicando las áreas de descanso de los caimanes entre 6:00 pm y 2:00am, estos eran alumbrados con linterna de alta intensidad para visualizar el brillo de los ojos.
- Una vez identificado el caimán su manejo y sujeción se determinó según su tamaño:
 - Individuos menores a 30cm: Se necesitó dos personas para subir los caimanes directamente al bote, donde inmediatamente se colocó una cinta en el hocico (Anexo 5).
 - Individuos de 30cm a 1 metro: Se necesitó dos personas, utilizando un lazo de sujeción se subió el animal al bote y colocó una cinta en el hocico, se cubrió los ojos y se sujetó los miembros posteriores y anteriores con soga para impedir movimientos bruscos (Anexo 5).
 - Individuos de 1 metro a más: Se requirió dos personas para realizar la sujeción en el agua con lazo, inmediatamente se llevó al animal hacia la orilla en tierra firme para su contención, para la sujeción en tierra se necesitó de 4 a 5 personas, donde se colocó la cinta en el hocico, cubrió los ojos y se sujetó ambos miembros con sogas para su inmovilización (Anexo 5).

c) Identificación de los individuos

- Se determinó la especie, sexo y edad de cada espécimen. Se consideró que individuos menores a 40 cm serían denominados como indeterminados debido a la dificultad en diferenciar los órganos genitales (10).
- La toma de datos morfobiométricos fueron realizados por un personal capacitado previamente y esta información fue apuntada en una guía previamente digitada (Anexo 6).

d) Toma de muestra sanguínea y frotis sanguíneo

- Se tomó la muestra de sangre mediante punción de la rama dorsal de la vena cava craneal obteniéndose de 3 a 10 ml (Anexo 7).
- Se procedió a realizar de 3 a 5 extendidos sanguíneos por cada individuo en láminas portaobjetos, que fueron dejados secar al aire por un lapso de 10 a 15 minutos (11) (Anexo 8).
- Las láminas fueron acomodadas en una caja porta-láminas para evitar su contaminación con el medio ambiente.
- Para cada muestra se determinó un código por individuo para su identificación en las muestras biológicas obtenidas.

e) Marcaje y liberación

- Previo a la liberación de los individuos capturados se les realizó una muesca de identificación que consistió en un corte en forma de “V” a nivel de la segunda cresta caudal.

Se liberaron los especímenes inmediatamente después de la toma de muestras, registros morfológicos y marcaje, previa observación por el médico veterinario. El animal liberado fue observado por varios minutos para asegurar su salud y desplazamiento normal post sujeción (Anexo 9).

f) Fijación, remisión y depósito de muestras

- Las muestras fueron llevadas al Hospital del Centro de Conservación “Reserva Ecológica Taricaya” ubicado cerca al lugar de colecta.
- Cada frotis fue fijado en metanol absoluto a una temperatura de 4°C por 20 min y posteriormente se dejó las láminas a secar al aire por unos 20 min adicionales.
- Finalmente las láminas fueron almacenadas en un contenedor de plástico, especial para láminas, y enviadas a la ciudad de Lima (11).

- Las muestras fueron depositadas en el Laboratorio del centro, donde se almacenó y aseguró su integridad para posteriores análisis.
- g) Recopilación de datos y monitoreo
- Los datos fueron procesados en hojas de cálculo para su análisis correspondiente dependiendo de la edad, sexo, peso, códigos y demás observaciones de los animales muestreados.
- h) Tinción de los frotices sanguíneos
- Todo procedimiento se realizó en el Laboratorio Central de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Escuela Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas.
 - Las muestras, previamente fijadas con metanol en campo, fueron teñidas con la tinción de May-Grunwald Giemsa. Siguiendo los siguientes pasos:
 - La lámina fijada anteriormente se cubrirá con un volumen de 2ml aproximado del colorante May Grünwald que se dejara actuar durante 3 minutos y posteriormente se inclina la lámina para retirar el exceso.
 - Posteriormente sin lavar el cubreobjetos se cubre con Giemsa recién diluido (1/10) con agua tamponada (pH 7,0 - 7,2).
 - Espera de 8 a 20 minutos se lava con agua tamponada (pH 7,0 - 7,2).
 - Se deja secar al aire (29) (Anexo 10).
- i) Observación al microscopio
- Las láminas teñidas fueron observadas al microscopio a un aumento de 100x con aceite de inmersión, con un microscopio óptico Leica DM750 (Anexo 11).
 - El método que se utilizó para la visualización de las láminas fue en zigzag, trazando líneas inclinadas de izquierda a derecha hasta completar la lámina.

- Al observar un hemoparásito, se tomó una fotografía para su identificación realizándose medidas que consistieron en el largo y ancho tanto del cuerpo como del núcleo del parásito, para ello se utilizó el programa Leica Microsystems CMS GmbH Versión 4.1.0 2003-2012.
- Para la identificación se utilizó fuente bibliográficas disponibles, como la brindada por Campbell (1), Trhall (2), Telford (7) y Laison (8).

Los resultados fueron escritos en una ficha de resultados.

j) Análisis de los resultados

Con los resultados obtenidos se llegó a las principales conclusiones, comparándolas con otros estudios realizados en cocodrilianos.

3.5 Diseño estadístico

Se realizó un análisis porcentual de los individuos positivos a *Hepatozoon sp.* utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Presencia \%} = \frac{\text{Numero de animales positivos}}{\text{Numero total de individuos analizados}} \times 100$$

Del mismo modo, se determinó la presencia de *Hepatozoon sp.* según el sexo (macho, hembra e indeterminado) y categoría etaria (sub adulto, adulto y adulto reproductivo). Se midieron los elementos parasitarios y obtuvieron los valores promedios y desviación estándar utilizando el programa Microsoft Excel® 2013.

IV. RESULTADOS

De los 30 individuos de Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de Dios, capturado en el año 2014, se determinó que el 90% (27/30) fueron positivos a *Hepatozoon sp.* analizando los frotis teñidos con Tinción May-Grunwald Giemsa (Anexo 12).

Según el sexo del caimán, se halló que el 100,0% (4/4) de hembras, el 95,2% (20/21) de machos y el 60,0% (3/5) de individuos de sexo indeterminados fueron positivos (Tabla 1) (Anexo 13).

Tabla 1. Presencia de *Hepatozoon sp.* en el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de dios-Perú, en el año 2014 (n=30).

Sexo	Positivo		Negativo		Total
	n	%	Negativo	%	
Hembra	4	100	-	-	4
Macho	20	95,2	1	4,8	21
Indeterminado	3	60,0	2	40,0	5
Total	27	90,0	3	10,0	30

Asimismo, se determinó que el 88% (22/25) de individuos sub-adultos, 100% (4/4) de adultos reproductores y 100% (1/1) de machos adultos reproductores fueron positivos *Hepatozoon sp.* (Tabla 2) (Anexo 14).

Tabla 2. Presencia de *Hepatozoon sp.* en el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de dios-Perú, en el año 2014, según la categoría etaria (sub adulto, adulto reproductor y macho adulto reproductor) (n=30).

Categoría etaria	Positivo		Negativo		Total
	n	%	Negativo	%	
Sub adulto	22	88,0	3	12,0	25
Adulto reproductor	4	100,0	-	-	4
Macho Adulto reproductor	1	100,0	-	-	1
Total	27	90,0	3	10,0	30

De los elementos parasitarios de *Hepatozoon sp.* se encontraron tanto intracelular como extracelular (Anexo 15), obteniendo las medidas promedio y desviación estándar del cuerpo y núcleo. En los parásitos intraeritrocitarios, el cuerpo midió 12,14 μm x 4,65 μm y el núcleo 5,91 μm x 2,62 μm . En los parásitos extraeritrocitarios, el cuerpo midió 18,51 μm x 3,77 μm y el núcleo 4,51 μm x 3,25 μm (Tabla 3).

Tabla 3. Biometría de cuerpo y núcleo de *Hepatozoon sp.* intraeritrocitario y extraeritrocitario en el Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de dios-Perú, en el año 2014 (n=27).

Ubicación	Parte	Largo (μm)		Ancho (μm)	
		Prom	DE	Prom	DE
Intracelular	Cuerpo	12,14	0,78	4,65	0,57
	Núcleo	5,91	1,42	2,62	0,27
Extracelular	Cuerpo	18,51	2,19	3,77	0,56
	Núcleo	4,61	0,03	3,25	0,22

Prom: promedio.

DE: desviación estándar.

V. DISCUSIÓN

Existen muy pocos reportes de hemoparásitos para el Caimán Blanco (*C. crocodilus*) en nuestro país, a pesar de ser un reptil de alta importancia para el ecosistema y potencial económico. En Perú se han realizado tres estudios de cocodrilianos en cautiverio, dos con Caimán Blanco (*C. crocodilus*) y uno para el Cocodrilo de Tumbes (*C. acutus*) (4, 5, 25). Por consiguiente, el presente estudio representa el primer trabajo realizado en aligatóridos de vida libre y con ello un aporte relevante al conocimiento del estado sanitario actual de los caimanes en silvestría.

En el presente trabajo se identificó *Hepatozoon sp.*, en los frotices sanguíneos, observando sus características morfológicas según lo citado por diversos autores, donde se describe que el parásito intraeritrocitario tiene forma alargada, con extremos redondeados y presenta un núcleo de apariencia granular y denso que puede ubicarse tanto al medio como en un extremo del cuerpo del parásito (6, 7, 8) (Anexo 15), a diferencia de otros hemoparásitos como Haemogregarina y Karyolysus que presentan un núcleo segmentado y de mayor tamaño (7). Todos los hallazgos en el presente estudio sugieren que el género *Hepatozoon* se encuentra parasitando a las poblaciones de caimanes silvestres del Bajo Rio Madre de Dios, donde esta especie es de gran importancia tanto ecológica como económica.

Así mismo se logró determinar un 90% (27/30) de *Hepatozoon sp.* en los animales muestreados, este alto porcentaje fue similar a lo reportado en el Caimán Yacaré (*Caiman crocodilus yacare*) de vida libre en Brasil con 100% (7/7) (6) y 76%(174/229)(10), así también en Caimán Blanco (*C. crocodilus*) mantenido en cautiverio en la ciudad de Iquitos (Perú) con 93,3% (14/15) de animales positivos (5). A diferencia del menor porcentaje descrito por Ortiz D. y colaboradores (2013), que describieron un 50% (3/6) y 14, 28% (2/14)

de *Hepatozoon* spp. en el Caimán Negro (*Melanosuchus niger*) de dos localidades en Ecuador (18), como también lo reportado en Cocodrilo de Tumbes (*Crocodylus acutus*) donde se describió un 16,6% (5/30) de *Hepatozoon* spp. en animales en cautiverio (25). Lo que nos sugiere, como ya antes se mencionó, que el Caimán Blanco es un aligatórido de amplia distribución con comportamientos particulares así como de una variada alimentación, por ende haciendo de esta especie una de las más propensas a diversas infecciones parasitarias.

De lo anteriormente expuesto podemos sugerir que *Hepatozoon* spp. se presentaría predominantemente en el género *Caiman*, pudiéndose relacionar a su distribución y tipo de hábitat el cual afectaría la presencia del vector. *Caiman* spp. se encuentra distribuido ampliamente y sus poblaciones son mayor a las de otras especies de cocodrilianos (3, 16), lo cual puede predisponerlo a una mayor diversidad de parásitos (10, 23). Además, el Caimán Blanco habita preferentemente en márgenes de los ríos donde se encuentra mayor cantidad de invertebrados hematófagos. A diferencia del Caimán Enano (*Paleosuchus trigonatus* y *Paleosuchus palpebrosus*) y el Caimán Negro (*Melanosuchus niger*) que prefieren aguas mansas en lagunas y corrientes suaves donde la vegetación es abundante, y se observa menor presencia de vectores (30). Adicionalmente, *C. crocodilus* convive cerca a poblaciones humanas donde el cambio al ecosistema podría incrementar la población de invertebrados hematófagos por lo que la transmisión de parásitos aumentaría significativamente (7,9), y con esto la mayor frecuencia de animales positivos.

Es importante considerar la época del año al momento de realizar las capturas de los individuos, no solo por la relación de machos y hembras, sino por la presencia de lluvias y consecuente incremento de vectores así como algunos intermediarios vertebrados (ranas) que forman parte de la dieta de los caimanes. Además, las hembras al permanecer más tiempo en tierra debido al cuidado de sus nidos aumentan su exposición a diversos vectores y por ende mayor infección de hemoparásitos (10, 14). Viana y colaboradores (2010)

describen diferencias en la frecuencia de *Hepatozoon caimani* en el Caimán Yacaré (*Caiman c. yacare*) de vida libre en Brasil, encontrando altos registros en época de lluvias (10). El presente estudio realizó las capturas en el mes de noviembre y diciembre que corresponde a la época de lluvia de la zona, por lo cual se vería favorecida la presencia de vectores y con esto la alta frecuencia de *Hepatozoon sp.*

Los hábitos alimenticios podrían afectar la presencia de hemoparásitos en reptiles, al ingerir los vectores como parte de su dieta en cierta etapa de desarrollo. En caimanes crías la alimentación se basa principalmente de invertebrados y en juveniles se consume anfibios (10). En la actualidad, ciertas especies de anfibios pueden mantener los ooquiste en sus órganos, y al ser consumidos, infectar a los caimanes (8). Vásquez (2014) describe a los insectos y anfibios como parte de la dieta natural de *C. crocodilus* en la Amazonia peruana (3), haciendo posible la infección y hallazgos en este estudio. Por el contrario, la baja frecuencia de *Hepatozoon spp.*, (16,6%) descrito en el Cocodrilo de Tumbes (*Crocodylus acutus*) en cautiverio (25), podría explicarse debido a que en la dieta silvestre de esta especie el consumo de anfibios es nulo y de insectos muy bajo, adicionalmente a ello la zona de distribución presenta menos vectores (31).

Adicionalmente, es necesario considerar otros factores que puedan afectar la presencia del vector y consecuente frecuencia de *Hepatozoon sp.*, como el estado de cautividad o vida libre de los individuos analizados. Rojas y colaboradores (2011) describieron la presencia de *Hepatozoon caimani* en tan solo el 10% (1/10) de una población de Caimán Blanco (*C. crocodilus*) en un zoológico de Lima (4), donde no se encuentra el vector natural de este hemoparásito, y los individuos cuentan con un programa de medicina preventiva que incluye la fumigación de ambientes. A diferencia de lo descrito por De Souza y colaboradores (2004) (2004), así como Viana y colaboradores (2010), en el Caimán Yacaré (*C.c yacare*) capturados en el Pantanal de Brasil donde obtuvieron altas frecuencias (100% y 76%

respectivamente), este hábitat natural favorece la presencia de los vectores (4), similares condiciones se presentaron en este estudio y por consiguiente la alta presencia del parásito. En el presente estudio, se halló *Hepatozoon sp.* en el 100% (4/4) de hembras, 95,2% (20/21) de machos y 60% (3/5) de sexo indeterminado. La relación macho y hembra en época seca es de 1:1 (32), cambiando en época de lluvia donde las hembras pueden adentrarse en el bosque por algunas semanas para cuidar a las crías (3, 10, 33) y con esto disminuir su probabilidad de captura. Consecuentemente, no es posible para este estudio analizar si el sexo sería un factor de riesgo para la presencia de este hemoparásito ya que la relación de ambos sexos difiere en gran medida. André y colaboradores (2010), tampoco encontraron diferencia estadísticamente significativa al evaluar a individuos de *C.* la diferencia entre el sexo de los individuos de *C.c.yacare* parasitados con *H. caimani* (10).

En cuanto a la categoría etaria de los individuos, el 88% (22/25) de subadultos y el 100% de adultos (5/5) fueron positivos a *Hepatozoon sp.* Viana y colaboradores (2010), describen que los individuos adultos de *C. c. yacare* se encuentran más parasitados (100%) que los juveniles (63%) (10). Sandland y Minchella (2003) mencionan que la edad puede ser un factor influyente en la presencia de hemoparásitos (34). Esta diferencia estaría relacionada al tiempo de exposición de los caimanes adultos ante la picadura de los hospederos invertebrados, ya que estos aligatóridos abrían pasado más temporadas de lluvia donde los vectores alcanzan su mayor tasa de multiplicación aumentando el riesgo de infección (10, 24). Por consiguiente podemos sugerir que los especímenes adultos al estar predominantemente parasitados son una fuente constante de transmisión del *Hepatozoon sp.* ya que como se ha descrito anteriormente los gametocitos pueden permanecer en el torrente sanguíneo por largos periodos.

Por otra parte, en referencia al mayor porcentaje de caimanes adultos positivos a *Hepatozoon sp.* en el presente estudio; Santos y colaboradores (2011) mencionan que los *C. c. yacare* a partir del segundo año van adicionando a su dieta pequeños vertebrados

como anuros (14). Laison (2003) demostró experimentalmente la infección de *Caiman crocodilus* alimentado con anuros parasitados con *Hepatozoon caimani*, donde estos últimos forma quiste en sus diversos órganos donde permanecen por largos periodos (8). En el departamento de Madre de Dios, donde se realizó el presente estudio, no se cuenta con información sobre la presencia de vectores u hospederos de hemoparásitos en reptiles, haciéndose necesario mayores estudios sobre el tema y si esto afectaría en la parasitemia según la edad de los individuos.

Adicionalmente a las características morfológicas de los gametocitos de *Hepatozoon sp*, se logró establecer un promedio métrico, considerándose el ancho y largo tanto del cuerpo como del núcleo. Las medidas del parásito intraeritrocitario del presente estudio fueron muy similares a las descritas por Laison y colaboradores (2003) para *Hepatozoon caimani* en el *Caiman c. yacaré*, el cual midió $12,15\mu\text{m} \times 4,3\mu\text{m}$ (8), pero sin reflejar la misma similitud en los gametocitos extraeritrocitarios los cuales fueron superiores en el presente estudio. En el Perú se describió *Hepatozoon caimani* intracelular en *C. crocodilus*, donde se reportó medidas del largo y ancho del cuerpo ($13,25\mu\text{m} \times 4,25\mu\text{m}$) (4), las cuales fueron superiores a las demostradas en el presente trabajo de investigación. Estas diferencias de medidas entre autores podrían sugerir que tanto la madurez del gametocito como la posición de este en el momento de su fijación comprometerían su biometría al momento de la lectura. Telford (2009) refiere que la identificación de la especie de *Hepatozoon* no podría realizarse utilizando solo un frotis sanguíneo, siendo necesario el análisis de la esporogonia en el hospedero invertebrado (7).

Asimismo, es importante considerar que los hemoparásitos como *Hepatozoon*, bajo ciertas condiciones, pueden causar cambios estructurales en los glóbulos rojos parasitados (4,6). No se sabe si estos cambios en los eritrocitos parasitados pueden reconocerse como no propios e inducir una respuesta inmune efectiva en sus huéspedes naturales (26). En el presente estudio se observó 04 caimanes presentando múltiples gametocitos, parasitando

un mismo eritrocito, pero tan solo dos de los aligatóridos muestreados presentaron destrucción de algunos glóbulos rojos, al igual que lo reportado por Souza y colaboradores (2004) que observaron eritrocitos con deformación de la membrana citoplasmática ocasionado por *Hepatozoon caimani* en el *C.c. yacare* (6).

Así también hay diversos autores que mencionan que altas parasitosis pueden ocasionar obstrucciones de capilares que ocasionarían trombosis y necrosis tisular (4, 6). Además, conllevar a una posible hepatitis granulomatosa, miocarditis, aumento en la mortalidad embrionaria y disminución de la capacidad reproductiva de las hembras (25). Los individuos capturados en el presente estudio presentaron buena condición corporal y se encontraban clínicamente sanos al momento de la captura a pesar de ser positivos a *Hepatozoon sp.* Es por ello que podemos mencionar que a pesar de la elevada presencia del parásito en las poblaciones de caimanes silvestres muestreados, estos aun presenten una elevada inmunidad natural debido a la constante reinfección, dando lugar a un equilibrio vector-hospedero, pero el cual puede tornarse frágil al menor impacto ambiental.

Por último, cabe indicar que el río Bajo Madre de Dios donde se realizaron las capturas de este estudio, presenta cierto impacto antrópico, ocasionado principalmente por la minería ilegal de oro y consecuentemente la contaminación por mercurio (3). Además, los caimanes soportan una presión de caza por parte de pobladores locales que podrían ocasionar estrés. En cocodrilianos la deficiencia inmunológica sumando al estrés ocasionado por la parasitosis y otros factores medioambientales predisponen a alteraciones circulatorias y consecuentes alteraciones ya descritas (25). Por lo tanto, a pesar de que los individuos estudiados no presentaron signos clínicos o lesiones evidentes, no se podría descartar que en algún momento de mayor presión o estrés ambiental los parásitos pueden causar lesiones e inclusive alterar la capacidad reproductiva de las hembras y con esto afectar su conservación.

VI. CONCLUSIONES

- Se halló que el 90% (27/30) de individuos de Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*) de vida libre en la zona del Bajo Madre de Dios fueron positivos a *Hepatozoon sp.*
- Se determinó una diferenciación parasitaria por categoría etaria donde los caimanes adulto fueron positivos en su totalidad con 100% (5/5) y los juveniles con tan solo 88% (22/25).
- Se identificó múltiples gametocitos de *Hepatozoon sp.* parasitando un solo eritrocito, al igual que la destrucción de algunos glóbulos rojos en los frotis de dos caimanes blancos (*Caiman crocodilus*) capturados. Todos los individuos presentaron buena condición corporal y no se evidencio ninguna sintomatología clínica en la evaluación médica. Por lo que en condiciones silvestres el equilibrio vector-hospedero puede mantenerse siempre y cuando no se altere la armonía natural.

VII. RECOMENDACIONES

- Evaluar una mayor población de caimanes de vida libre incluyendo las 4 especies de aligatóridos que se encuentran en Madre de Dios, así como ampliar el rango de estudio abarcando tanto el bajo como el alto río Madre de Dios, para con ello determinar si existe una variación significativa según el área de distribución.
- Se recomienda que en próximos estudios la muestra tanto de machos como hembras se realice de manera proporcional, para poder establecer una diferenciación por sexo, para ello debe considerarse la época de captura por lo que adicionalmente se debe realizar estudios tanto en época de lluvia como en época seca.
- Sera de importancia que en próximos muestreos se tome en consideración tener una muestra homogénea en cuanto a la categoría etaria para con ello corroborar el presente estudio y establecer cuál de los grupos etarios es el de mayor predisposición a una infección por hemoparásitos.
- Es necesario el estudio complementario del parásito en los hospederos invertebrados, debido a que ello nos proporcionara una adecuada identificación de las diversas especies de *Hepatozoon* descritas para américa del sur y probablemente el hallazgo de nuevas especies, adicionalmente la posibilidad de identificar otros géneros de Hemogregarinas.

- Se requieren investigaciones adicionales para ampliar los estudios sobre las diversas enfermedades de los caimanes de vida libre, en particular para dilucidar el papel de los aligatóridos silvestres como reservorios de posibles infecciones.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Campbell W.T. Hemoparasites. In: Duncan L, editors. Reptile Medicine and Surgery. USA: St. Louis Elsevier; 2006. p. 801-805.
2. Campbell W.T. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. In: Thrall M. A, Weiser G, Allison W.R, Campbell W.T. Iowa: Blackwell Publishing; 2012. p. 291-295.
3. Vásquez R. Estado del conocimiento de los Caimanes distribuidos en la Amazonia Peruana, basado en el análisis de literatura disponible. 2a ed. Lima: Centro de Datos para la Conservación - Universidad Nacional Agraria La Molina / Ministerio del Ambiente / Agencia de los Estados Unidos de América para el Desarrollo Internacional; 2014.
4. Rojas G, Alvis R, Pino J, Shiga B. Presencia de *Hepatozoon caimani* (Apicomplexa: Hepatozoidae) en el “Caimán Blanco” *Caiman crocodilus* (LINNEUS 1758) en un zoológico de Lima, Perú. Rev Inv Vet [serie en internet]. 2011; 22(1): 56-60.
5. Ortiz L. Presencia de *Hepatozoon sp.* en “Caimán blanco” *Caiman crocodilus* (Linneaus 1758) mantenidos en cautiverio en el Parque Zoológico Quistococha (Loreto, Perú) [Tesis]. Lima: Universidad Peruana Cayetano Heredia. Facultad de Veterinaria y Zootecnia; 2007.
6. De Souza E, Aguilar R. Aspectos Morfológicos do Parasita *Hepatozoon caimani* em Jacaré (*Caiman crocodilus yacare*) no Pantanal Sul. Comunicado Técnico [serie en internet]. 2004 [Citado 20 Jun 2018]; 41: [aprox. 2 p.]. Disponible en: <https://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/bitstream/doc/812034/1/COT41.pdf>
7. Telford S. Hemoparasites of the Reptilia. 1er ed. New York: Taylor & Francis Group; 2009.

8. Laison R, Paperna I, Naiff R. Development of Hepatozoon caimani (Carini, 1909) Pessôa, De Biasi & De Souza, 1972 in the *Caiman Caiman c. crocodilus*, the Frog *Rana catesbeiana* and the Mosquito *Culex fatigans*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro [serie en internet]. 2003 [Citado 20 Jun 2018]; 98(1): [about. 6 p.]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0074-02762003000100014>
9. Smith T. The Genus Hepatozoon (Apicomplexa: Adeleina). The American Society of Parasitologists, The Journal of Parasitology [serial on the Internet]. 1996 [cited 2018 Oct 15]; 82(4): [about 20 p.]. Available from: <http://www.jstor.org/stable/3283781>
10. Viana L, Paiva F, Coutinho M, Lourenco R. *Hepatozoon caimani* (Apicomplexa: Hepatozoidae) in wild caiman, *Caiman Yacare*, from the Pantanal region, Brazil. J. Parasitol [serial on the Internet]. 2010 [cited 2018 Oct 15]; 96(1): [about 6 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1645/GE-2150.1>
11. Tirado J. Prevalencia de Hemoparásitos en Tortugas Mata Mata (*Chelus fimbriatus*) (Schneider, 1783) del Parque Zoológico Huachipa Lima-2008 [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Facultad de Medicina Veterinaria; 2008.
12. Siddall E, Desser S. Transmission of *Haemogregarina balli* from painted turtles to snapping turtles through the leech *Placobdella ornata*. J. Parasitol. 2001; 87(5): 1217-1218.
13. Carpenter J. Formulário de Animais Exóticos. 3er ed. Sao Paulo: MedVet Ltda; 2010.
14. Santos A, Pereira H, Silva J, Hirano L. Hemoparasitas em Jacaré Açu E Jacaré Tinga Capturados na APA Meandros Do Rio Araguaia. Arq. Inst. Biol. 2011; 78(3): 429-433.
15. Catalogue of life: Caiman crocodilus: Integrated Taxonomic Information System (ITIS) [internet]; 2019 [Citado 27 Jun 2018]. Available from: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/2169464fbc24236e32ec1d7b81a59a45>
16. Negromonte J. Crocodilianos Biología, Manejo e Conservacao. 1era ed. Sao Paulo: Arpoador; 2003.

17. Coutinho M. Population ecology and the conservation and management of Caiman yacare in the Pantanal, Brazil. Australia: University of Queensland; 2000.
18. Ortiz D, Carvajal-Campos A, Rodríguez-Guerra A. *Caiman crocodilus*. Reptilia Web Ecuador [serial on the internet]. 2013 [cited 2014 Dec 11]; Available from: <http://zoologia.puce.edu.ec/vertebrados/reptiles/FichaEspecie.aspx?Id=1630>.
19. XIII Congreso Internacional de Manejo de Fauna Silvestre en la Amazonia y Latinoamérica. Paraguay; 07-11 de Mayo 2018. Paraguay: CIMFAUNA; 2018. p. 62-63.
20. Agricultura y Riego. Decreto Supremo que aprueba la actualización de la lista de clasificación y categorización de las especies amenazadas de fauna silvestre legalmente protegidas. Decreto supremo N° 004-2014-MINAGRI. Boletín Oficial del Estado n° 520497, [6-11-2014].
21. The International Union for Conservation of Nature, The IUCN Red List of Theratened Species [internet]; 2014 [Consultado 27 Jun 2018]. Disponible en: www.iucnredlist.org
22. Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres CITES [internet]; 2015 [Consultado 27 Jun 2018]. Disponible en: <http://checklist.cites.org>
23. Soares P, Corrente T, Rolland L, Lúcia V, Geraldés M, Paiva F. Hepatozoon caimani Carini, 1909 (Adeleina: Hepatozoidae) in wild population on Caiman yacare Daudin, 1801 (Crocodylia: Alligatoridae), Pantanal, Brazil. Parasitol Res. 2017.
24. Bouer A, André M, Gonçalves L, Luzzi M. Hepatozoon caimani in *Caiman crocodilus yacare* (Crocodylia, Alligatoridae) from North Pantanal, Brasil. Braz. J. Vet. Parasitol. 2017 Jul; 26(3): 352-358.
25. Enríquez C, Elías R, Montes D, Saldarriaga F. Presencia de hemoparásitos de los géneros Hepatozoon y Haemoagregina en ejemplares de cocodrilo americano (*Crocodylus acutus*) mantenidos en cautiverio en Tumbes, Perú. Zoológica [serie en internet]. 2014 [citado 15 Nov 2018]; 1(1): [aprox. 7p.]. Disponible en:

https://www.researchgate.net/profile/Roberto_Elias/publication/306106730_Presencia_de_hemoparasitos_de_los_generos_Hepatozoon_y_Haemoagregina_en_ejemplares_de_cocodrilo_americano_Crocodylus_acutus_mantenidos_en_cautiverio_en_Tumbes_Peru/links/57b1dc1108ae15c76cbb3243.pdf

26. Andrew D, Horan R, Grosse A, Harris B. Gender Differences in Haemogregarine Infections in American Alligators (*Alligator mississippiensis*) at Savannah River, South Carolina. *J Wildl Dis.* 2011 Oct; 47(4): 1047-9.
27. Leslie A, Lovely C, Pittman J. A preliminary disease survey in the wild Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*) population in the Okavango Delta, Botswana. *Department of Conservation Ecology y Entomology, University of Stellenbosch*. 2011 Jan; 82(3): 155-159.
28. Barboza N, Fioranelli S, Koza G. Relaciones entre el peso y las dimensiones corporales de los yacarés "overo" (*Caiman latirostris*) y "negro" (*Caiman yacare*) en cautiverio. *Universidad Nacional del Nordeste, Comunicaciones Científicas y Tecnológicas.* 2005; V(004).
29. Clark, G. *Staining procedures.* 4ta. ed. Australia: Biological Stain Commission by Williams & Wilkins; 1981.
30. Hernández D. "Determinación del estado poblacional del *Caiman crocodilus* y *Melanosuchus niger* en la cuenca media del Rio Samiria – Reserva Nacional Pacaya Samiria – Loreto – Perú [Tesis]. Iquitos: Universidad Nacional de la Amazona Peruana. Escuela de formación profesional de Ingeniería en Ecología de bosques Tropicales; 2016.
31. Andreu G, Quiroz G. Hábitos alimenticios de *Crocodylus acutus* (Reptilia:Crocodylidae) determinados por el análisis de sus excretas en la costa de Jalisco, México. *Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal [serie en internet].* 2003 [citado 15 Nov 2018]; 74(1): [aprox. 8 p.]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/html/458/45874104/>

32. Gómez A. Abundancia, estructura etaria y proporción de sexo de caimanes (Crocodylia: Alligatoridae) en el río Baratillo de la Reserva Nacional Pucacuro, Loreto – Perú [Tesis]. Loreto: Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Facultad de Ciencias Biológicas; 2015.
33. Sigler L. Monitoreo Poblacional de Caimanes *Caiman crocodilus chiapasius* en Estero Prieto, Tonalá, Chiapas. En: Libro de Ponencias: 6ª Reunión Nacional de Herpetología. Sociedad Mexicana de Herpetología. Chiapas; 2000.p. 1-7.
34. Sandland G, Minchella D. Costs of immune defense: an enigma wrapped in an environmental cloak?. Trends in Parasitology Top of Form. 2003 Dec; 19(12): 571-4.

ANEXO 1

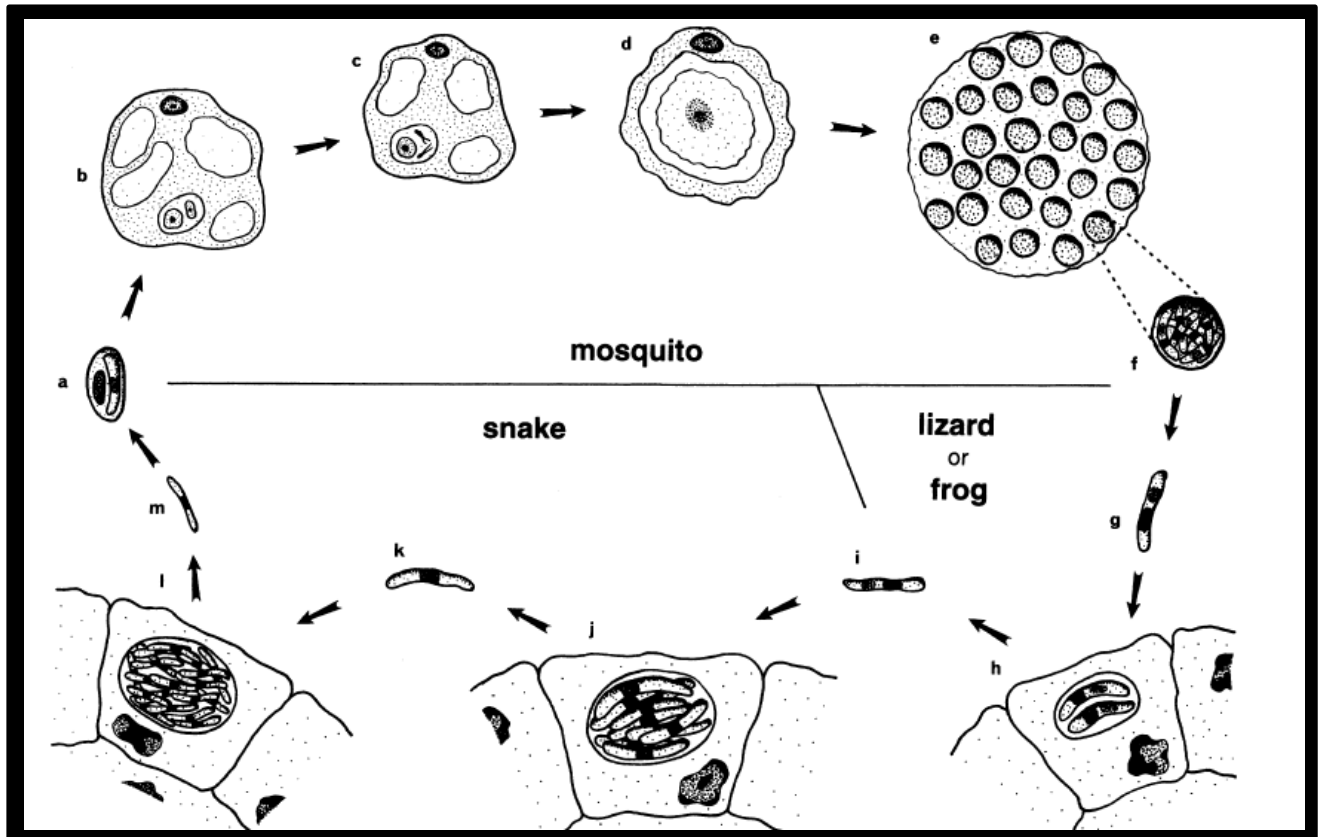


Figura: Representación esquemática del ciclo de vida de una especie común de *Hepatozoon*.

Fuente: Smith T. 1996 (9).

ANEXO 2



Figura: Punto de captura de los caimanes, 2014.

Fuente: Elaboración propia, 2015.

ANEXO 3

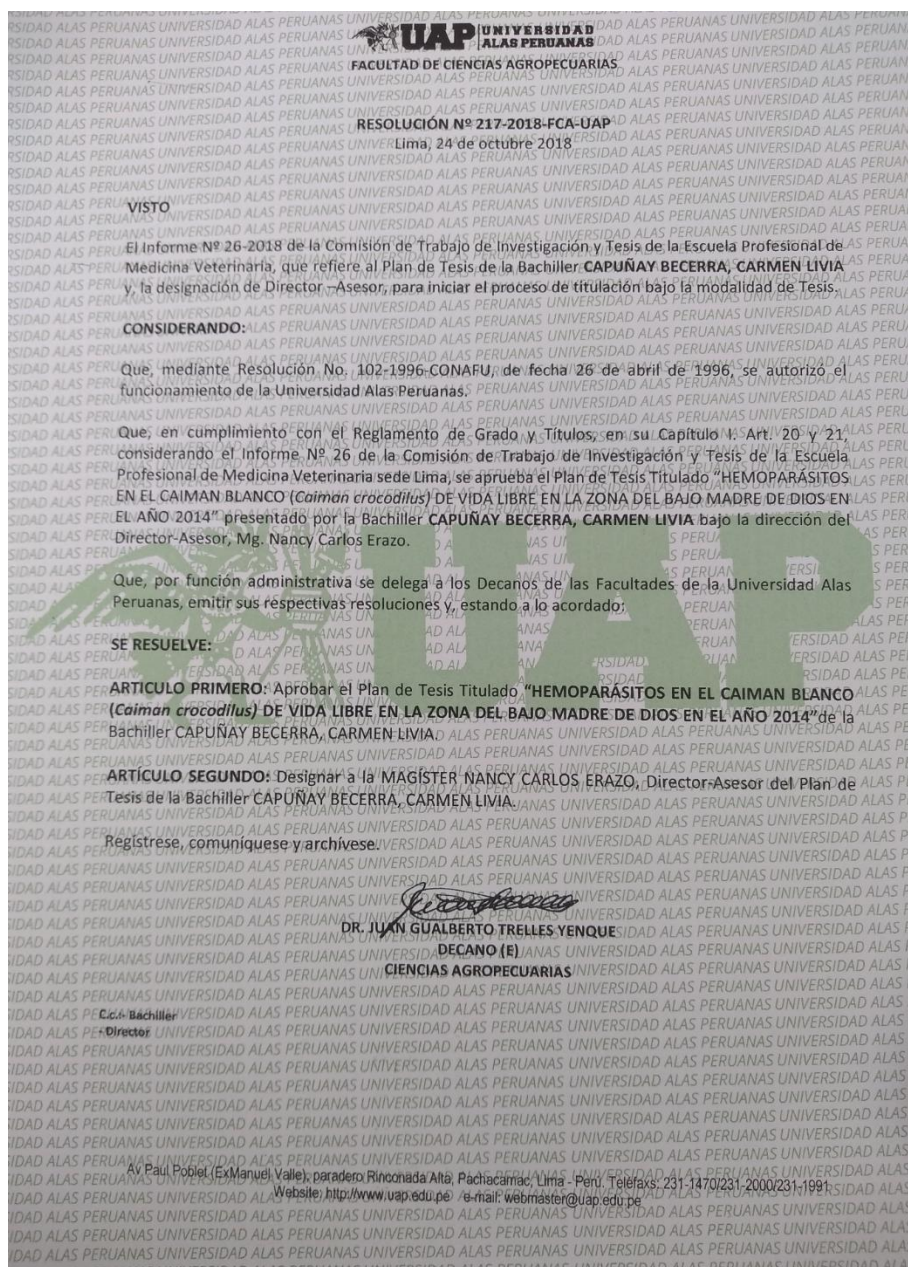


Figura: Resolución N° de Resolución 217-2018-FCA-UAP.

Fuente: Universidad Alas Peruanas, 2018.

ANEXO 4

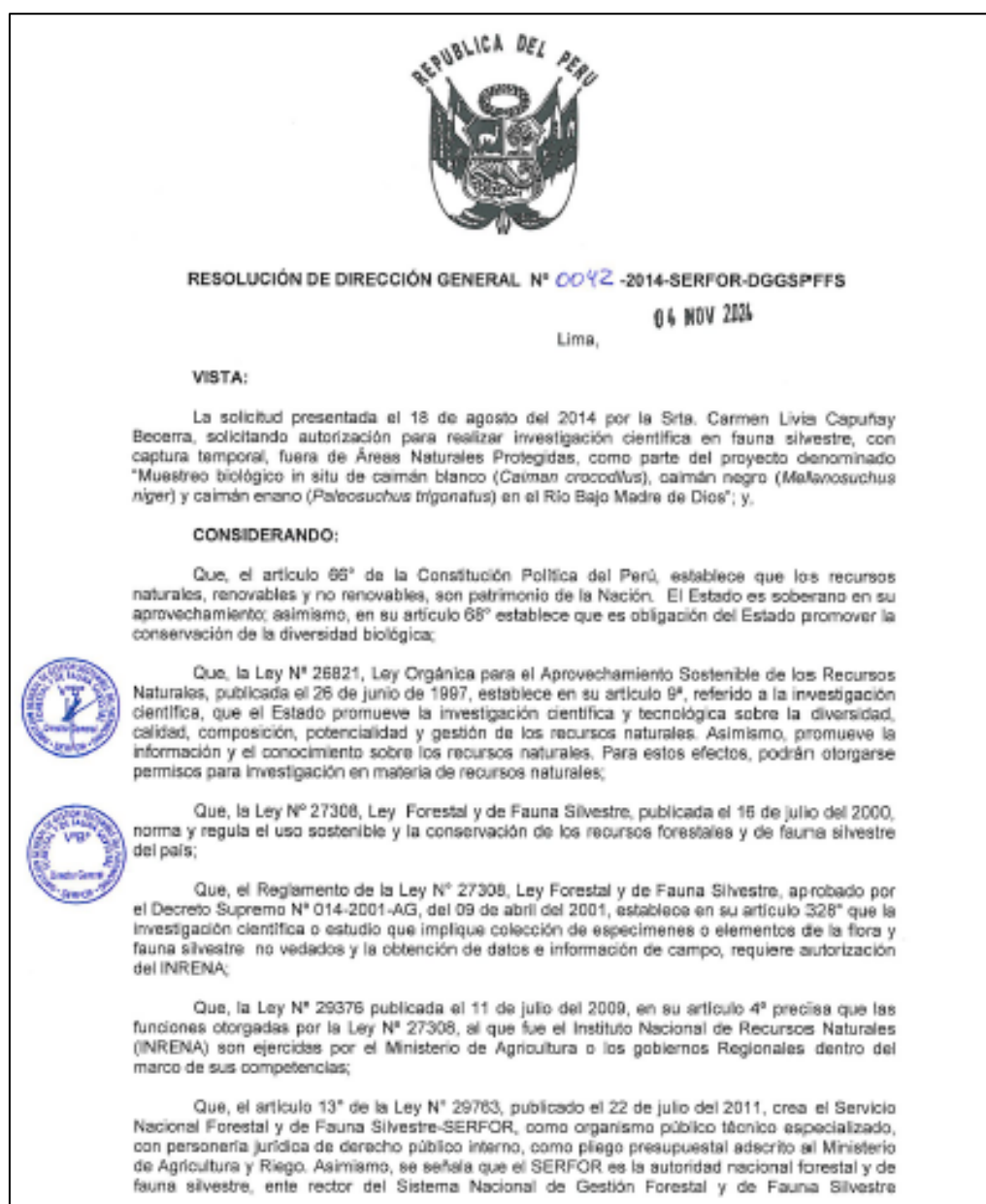


Figura: Resolución N° 0042-2014-SERFOR-DGGSPFFS.

Fuente: SERFOR, 2014.

ANEXO 5



Figura: Captura de especímenes.

Fuente: Elaboración propia, 2014.

ANEXO 6



Figura: Medidas Biométricas (medidas y peso).

Fuente: Elaboración propia, 2014.

ANEXO 7

Figura: Toma de muestra sanguínea con punción de vena cava craneal.

Fuente: Elaboración propia, 2014.

ANEXO 8



Figura: Frotis sanguíneo de Caimán Blanco (*Caiman crocodilus*).

Fuente: Elaboración propia, 2014.

ANEXO 9

Figura: Liberación del caimán en la zona de captura.

Fuente: Elaboración propia, 2014.

ANEXO 10

Figura: Proceso de tinción de las muestras con May Grünwald – Giemsa.

Fuente: Elaboración propia, 2014.

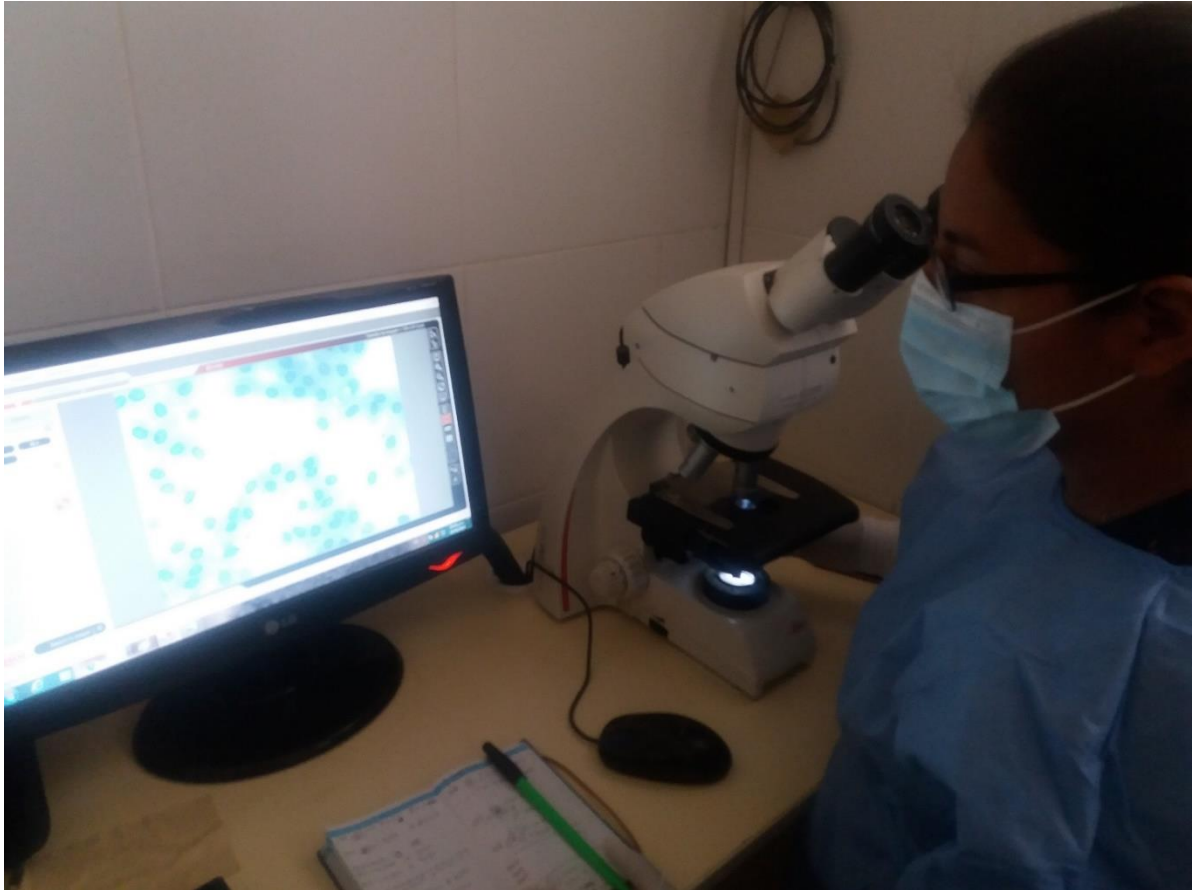
ANEXO 11

Figura: Observación al Microscopio de las láminas en busca de Hemoparásitos.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

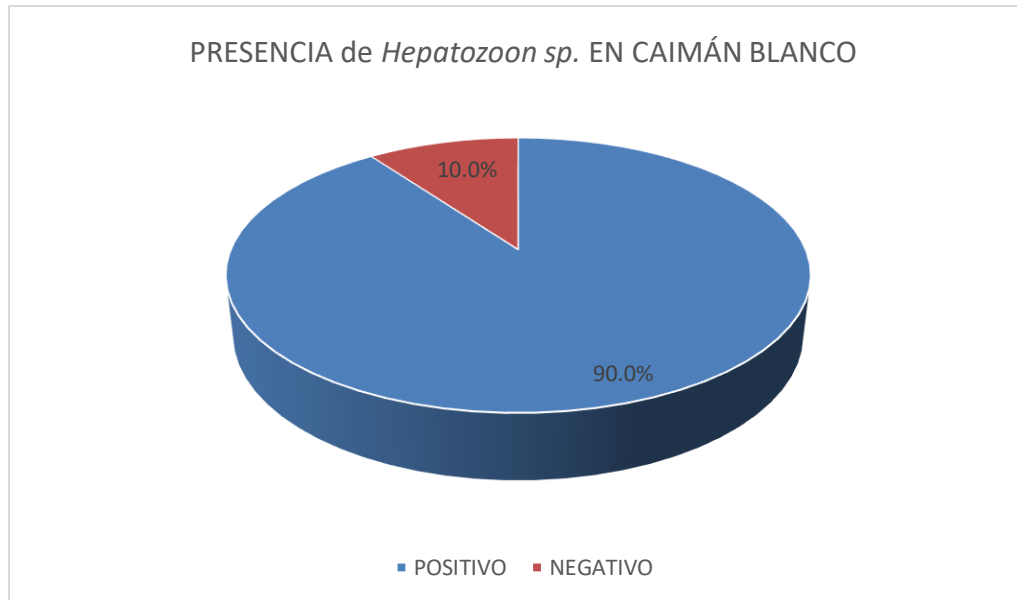
ANEXO 12

Figura: Presencia de *Hepatozoon sp.* en relación a individuos positivos y negativos de caimán blanco (*Caiman crocodilus*).

Fuente: Elaboración propia, 2018.

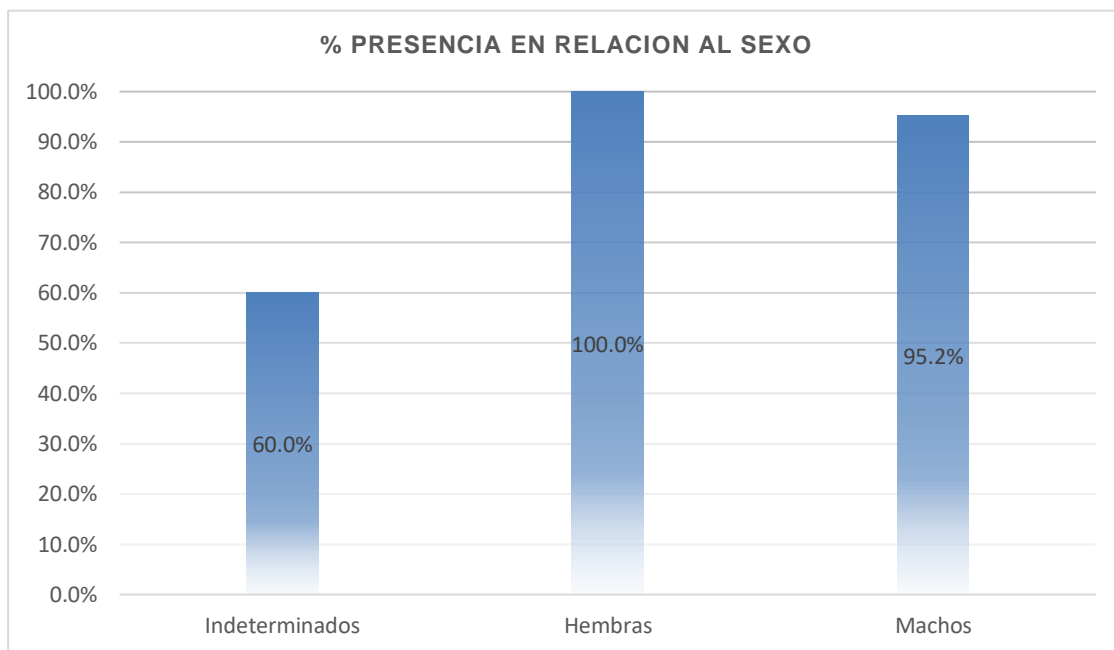
ANEXO 13

Figura: Presencia (%) de *Hepatozoon sp.* en relación al sexo de caimán blanco (*Caiman crocodilus*)

Fuente: Elaboración propia, 2018.

ANEXO 14

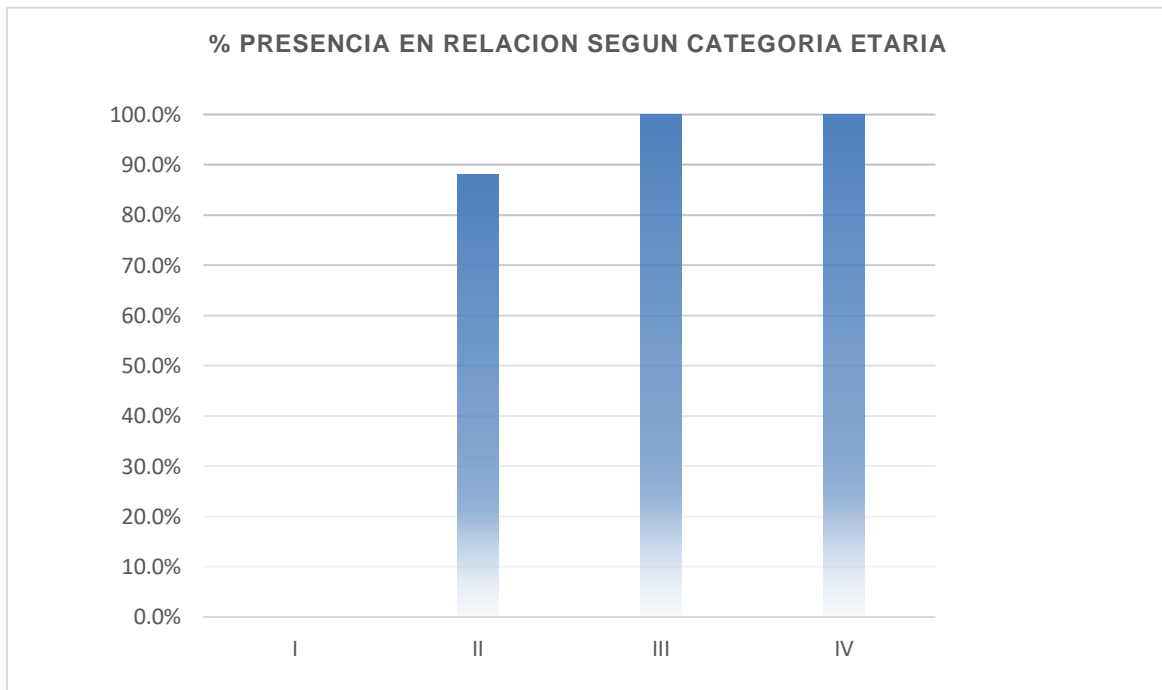


Figura: Presencia de *Hepatozoon sp.* según la categoría etaria (sub adulto II, adulto reproductor III, macho adulto reproductor IV) de caimán blanco (*Caiman crocodilus*).

Fuente: Elaboración propia, 2018.

ANEXO 15

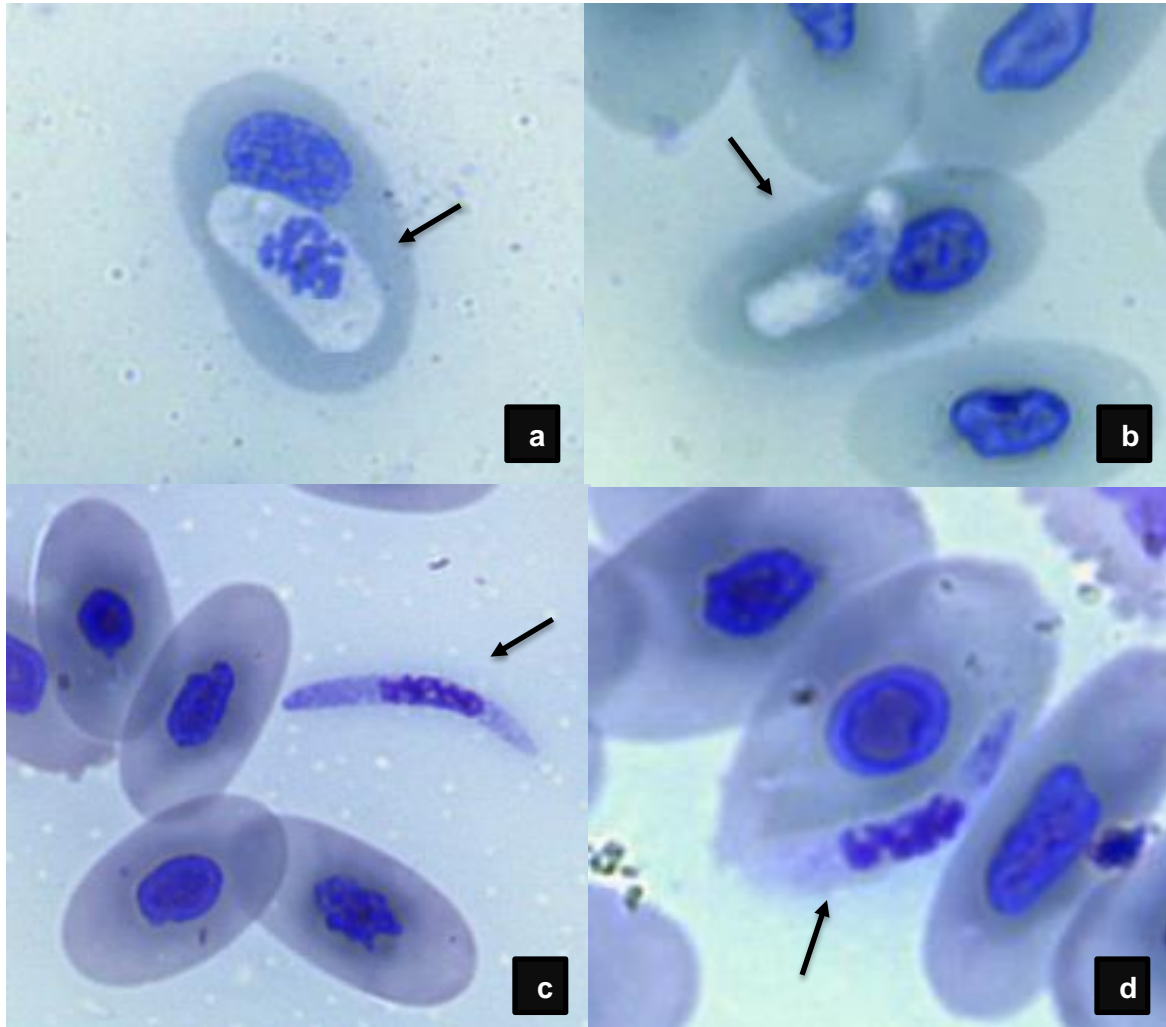


Figura: (a, b) Gametocitos de *Hepatozoon sp.* parasitando eritrocitos de *Caiman crocodilus*, (c, d) Gametocitos de *Hepatozoon spp.* libres en la corriente sanguínea de *Caiman cocrodilus*.

Fuente: Elaboración propia, 2018.